OMAGGIO

R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA

LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

99

O. VERONA

RECHERCHE D'UN PRINCIPE LYSANT DANS LES TERRES CULTIVÉES

Estratto dal "*Bollettino della Sezione Italiana della Soc. Inter. di Microbiologia*„
Fac. XI - Novembre 1934

1934 - XII

O. VERONA

Recherche d'un principe lysant dans les terres cultivées

Estratto dal « *Bollettino della Sezione Italiana della Società Internazionale di Microbiologia* »
Fasc. XI – Novembre 1934

MILANO
INDUSTRIE GRAFICHE ITALIANE STUCCHI
VIA MARCONA, 50

—

1934

O. VERONA

Recherche d'un principe lysant dans les terres cultivées

Estratto dal « *Bollettino della Sezione Italiana della Società Internazionale di Microbiologia* »
Fasc. XI – Novembre 1934

MILANO
INDUSTRIE GRAFICHE ITALIANE STUCCHI
VIA MARCONA, 50

1934

Il est connu que les savants se sont bien occupés de la recherche du Bactériophage dans les eaux des égouts, dans les eaux fluviales, des lacs et de la mer. Nous ne résumerons point le grand nombre de travaux parus à ce sujet qui contrastent avec la petite quantité des recherches faites sur le terrain végétal.

La première et courte communication sur ce problème est celle de DUMAS (1) qui réussit à isoler un Bactériophage actif vis-à-vis du *B. dysenteriae* Shiga et le *B. coli* d'un terrain amendé avec du fumier, où, comme chacun le sait le Bactériophage est presque constamment présent.

RACCHIUSA (2) peu de temps après, en faisant aussi des recherches avec la *bactérie de Shiga* et le *B. coli*, trouva un principe lysant actif vis-à-vis de ces germes dans la poussière des routes et dans de différents terrains. Il remarque que la lyse était d'autant plus complète que le terrain était plus profond.

D'autres observations, ensuite, sont dues à des phytopathologistes et à de microbiologistes agricoles. Parmi ceux-ci nous trouvons, en premier lieu, GERRETSEN, GRYNS, SACK et SOHNGEN (3) qui obtinrent un Bactériophage actif vis-à-vis du *Bact. radicicola*, dans la terre des jardins et des champs, mais non vis-à-vis de celui dans les terrains non cultivés et des forêts.

COONS et KOTILA (4) trouvèrent un Bactériophage virulent pour le *B. atrosepticus* dans un filtrat d'un terrain arrosé auparavant avec une suspension de cultures pures du germe, tandis qu'ANDERSON (5) isola un Bactériophage actif vis-à-vis du *Bact. pruni* d'un terrain qui se trouvait au dessous de pêchers atteints de ce germe, ou bien qui avait été préalablement infecté directement avec ce germe.

Enfin, tout dernièrement, DEMOLON et DUNEZ (6) ont signalé la présence d'un Bactériophage actif vis-à-vis du *B. radicicola* dans de vieux terrains cultivés en luzerne, mais pas dans les terrains neufs ni dans ceux cultivés avec diverses autres plantes.

Parmi les travaux rappelés plus haut, celui qui attire le plus l'attention au point de vue hygiénique et au point de vue de la microbiologie, concernant dans ce cas particulièrement l'épuration des eaux sales

utilisées pour l'irrigation, est le travail de RACCHIUSA. Les autres travaux perdent toute leur importance, du moment que, dans les terrains qui servaient aux expériences, la culture du germe était présente ou bien y avait été ajoutée directement ou indirectement. En outre, on y apportait aussi des matériaux où la présence du Bactériophage était très probable, sinon certaine. Ces travaux servent, tout au plus, à nous donner une idée sur la transmissibilité du Bactériophage.

D'autre part, les résultats auxquels RACCHIUSA est arrivé nous semblaient mériter d'être confirmés, pour établir s'il était possible de les appliquer plus largement et de les généraliser, et jusqu'à quel point.

Nos expériences, ont été faites avec des terrains provenants de localités différentes et d'une constitution typique: nous nous sommes servi d'un terrain nettement argileux des collines de Volterra, d'un terrain de tourbières de la zône de Ferrara et d'un terrain de composition moyenne de la campagne de Pise. Le premier était alcalin, le deuxième légèrement acide et le dernier près de la neutralité. Au début, nos recherches furent faites pas seulement avec le *B. coli* et le *B. dysentérique de Shiga*, mais aussi avec le *Vibrion cholérique*, avec le *B. typhique*, les *paratyphiques A* et *B*, le *Brucella melitensis* et le *proteus* (*).

En règle générale, nous avons adopté la technique de D'HÉRELLE.

Nous prîmes 100 gr. de terrain et y ajoutâmes 100 cc. de bouillon de viande: on maintint le tout à l'étuve à 24° pendant 24 heures, et on filtra ensuite sur bougie Chamberland L 3. Avec quatre gouttes de la partie filtrée auxquelles on avait ajouté deux gouttes de culture en bouillon de 24 heures, nous avons ensemencé uniformément la surface d'un tube de gélose inclinée et, en même temps, nous en avons ensemencé un autre, sans filtrat, comme temoin. Ainsi traités, les tubes furent conservés à 37° et les résultats furent relevés après 24 heures.

Aucune lyse ni aucune diminution de l'abondance du développement se manifestèrent: pour confirmer cette donnée, l'expérience fut répetée, mais le résultat fut encore négatif.

Pour être encore plus sûrs, on fit d'autres expériences en se servant d'un filtrat obtenu comme il a été dit précédemment, et avec des filtrats de terrain cultivé sur du bouillon pendant trois et dix jours consécutifs. En outre, au lieu d'ensemencer, avec des gouttes de la partie filtrée à laquelle on avait ajouté des gouttes de culture en bouillon, le tube de gélose inclinée, nous ajoutâmes, aux tubes contenants une culture en bouillon agee de 24 heures, des germes dont on voulait obtenir la lyse, tantôt une, tantôt deux gouttes du filtrat.

(*) Les souches pathogènes nous ont été aimablement fournies par le Prof. SANFELICE, Directeur de l'Institut d'Hygiène de la Faculté de Médecine de l'Université Royale, grâce à notre confrère le Dr. CORMIO. Nous avons le plaisir de les remercier de tout coeur.

Aucun de ces essais ne donna de résultats positifs; et l'on ne obtint pas même de rèsultats positifs après six ultérieures filtrations.

En deuxième lieu, et en suivant la même technique, nous avons fait des expériences avec des germes pathogènes pour les plantes et avec des germes du milieu extérieur isolés directement tout exprès.

Le premiers, provenants de la « National Collection of type cultures » de Londres, étaient: le *B. carotovorus*, *B. mori*, *B. tumefaciens*, *B. pruni*, *B. campestre*, *B. hyacinthi* et deux souches de *B. radicicola* (fève et luzerne) qui existaient dans notre collection. Les seconds étaient: le *Microc. roseus*, *Microc. agilis*, *Bact. fluorescens-liquefaciens*, *Bact. punctatum*, *Bact. helvolum*, *Bac. subtilis*, *B. mycoides*, *B. mesentericus ruber*; ce dernier nous venait du Spitzberg.

Dans ce cas aussi, bien que l'on eut fait six passages, on ne put avoir aucune lyse ni aucune diminution du développement.

Ces données, assez plus complètes que celles dont nous disposions jusqu'à aujourd'hui, tant par la plus grande quantité de germes soumis aux expériences que par la nature différente des terrains utilisés, ne nous permettent point de généraliser l'affirmation (que certains considèrent déjà comme un fait établi) que le Bactériophage existe dans les terres de labour. Beaucoup d'essais sont encore nécessaires, aux quels nous nous proposons de travailler, ayant en voie d'exécution un programme assez vaste sur cette question. Plusieurs faits, en tous cas, nous permettent d'affirmer que le Bactériophage n'existe dans le terrain que dans les cas où peut s'établir la combinaison Bactérie-Bactériophage — ce qui ne se produit que pour les germes pathogènes et pour le *B. radicicola*. Cette hypothèse trouve un argument dans les recherches, rappelées plus haut, de GERRETSEN et d'autres Auteurs, qui trouvèrent un Bactériophage actif vis-à-vis du *B. radicicola* dans des terrains où l'on cultivait des légumineuses, ou bien où l'on pouvait en supposer l'existence. D'autres recherches confirmatives sont celles de DEMOLON et DUNEZ (*) qui n'observèrent un Bactériophage actif pour le *B. radicicola* que dans les terrains cultivés en luzerne depuis longtemps et non dans ceux de culture récente ou dans d'autres culture. Indirectement confirmatives aussi sont les recherches de SCHLOSSMANN (7), qui étudia la présence d'un Bactériophage dans les eaux superficielles et les trouva

(*) Pendant que le présent travail était en composition on a publié dans ce Buletin (Fasc. IX, Vol. VI) une communication que, sur l'argument, C. ARNAUDI et E. CASTELLANI presentèrent au V Congrès Italien de Microbiologie.

Dans cette intéressante communication les AA. donnent les résultats d'essais exécutés par le Bacteriophage du *B. radicicola* en confirmant les résultats de DEMOLON et DUNEZ.

Pareillemente ils relèvent une certaine specificité du Bacteriophage et sa differente intensité d'action dans les régardes de la differente concentration en ions hydrogène et de differentes températures.

dépourvues ou très pauvres en principes lysants si les conditions hygièniques étaient favorables, et au contraire riches de ces principes seulement vis-à-vis des germes de la dysenterie, de la typhoïde et le *B. coli* lorsqu'on pouvait supposer qu'elles avaient été contaminées par des matières fécales.

Il est connu, du reste, que le Bactériophage présent dans les eaux des fleuves (voir le grand nombre de recherches faites en France et, chez nous, un travail de SANGIORGI et VERCELLANA [8]) est plus virulent et généralement plus abondant en aval qu'en amont des centres habités, car les eaux en aval sont plus riches en matières fécales et en déchets.

CONCLUSIONS. – Dans des terrains de différentes natures, on a cherché la présence d'un principe lysant actif vis-à-vis des germes pathogènes pour l'homme et pour les plantes, et vis-à-vis des germes banaux du sol.

Tout les résultats ont été négatifs.

Ces conclusions ne sont toutefois pas en opposition avec la doctrine du Bactériophage qui admet généralement comme nécessaire pour son existence, en même temps que le germe à lyser, l'intervention de l'hôte.

Tout au plus, on doit admettre (comme les résultats obtenus par d'autres savants le font penser) que le terrain n'est capable que de transmettre le principe lysant.

Laboratoire de Bactériologie de l'Institut Royal Supér. Agricole de Pise.

BIBLIOGRAPHIE

1. DUMAS, « Sur la présence du bacteriophage dans l'intestin, dans la terre et dans l'eau ». *C. R. de la Soc. de Biologie*, 83, 1314, 1920.
2. RACCHIUSA, « Il batteriofago in rapporto all'autosterilizzazione del terreno ». *Ann. d'Igiene*, 33, 396, 1923.
3. F. C. GERRETSEN, A. GRYNS, J. SACK e N. H. SOHNGEN, « Das Vorkommen eines Bakteriophagen in den Wurzelknöllcken der Leguminosen ». *Centr. f. Bakt.*, II Abt., 60, 311, 1923.
4. G. H. COONS e J. E. KOTILA, « The transmissible lyticprinciple (bacteriophage) in relation to plant pathogenes ». *Phytopathology*, 15, 357, 1925.
6. A. DEMOLON e A. DUNEZ, « Bactériophage et fatigue des sols cultivés en luzerne ». *C. R. de l'Ac. de Sciences*, N. 22 27, XI, 1933, pag. 1344.
7. K. SCHLOSSMANN, « Ueber das Vorkommen von Bakteriophagen im Wasser ». *Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 114, 65, 1932.
8. SANGIORGI e VERCELLANA, « Il principio litico nelle acque di alcuni fiumi italiani ». *Annali d'Igiene*, 1926.